

بررسی بیگانه‌خواری و قدرت کشنده‌گی نوتروفیل‌های بیماران مبتلا به تالاسمی مژور

جهانگیر عبدالی^۱، دکتر مژگان شایگان^۲

چکیده سابقه و هدف

به دلایل مختلف عملکرد سیستم ایمنی بیماران مبتلا به تالاسمی دچار نقصان می‌باشد. لذا این بیماران مستعد ابلاط به عفونت‌های راجعه هستند. یکی از این عوامل نقص بیگانه‌خواری، جذب شیمیایی و قدرت کشتن باکتری‌ها به وسیله نوتروفیل‌های آن‌ها است. با توجه به گزارش‌های متعدد در مورد کاهش عملکرد نوتروفیل‌ها، فعالیت بیگانه‌خواری و قدرت کشنده‌گی آن‌ها را در بیماران مبتلا به تالاسمی مژور بررسی نمودیم.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به صورت توصیفی انجام شد. در این مطالعه، نمونه خون از ۳۰ بیمار مبتلا به تالاسمی مژور (۱۶ فرد فاقد طحال و ۱۴ فرد دارای طحال) که به صورت تصادفی نمونه برداری شده و ۳۰ فرد سالم فاقد سابقه فامیلی بیماری مورد ارزیابی قرار گرفتند. جهت بررسی آماری از آزمون *t*-student و *X*² استفاده شد.

یافته‌ها

یافته‌های ما نشان دادند که ارتباطی بین سن و جنس و اعمال نوتروفیل‌ها در این بیماران وجود ندارد. اختلاف معنی‌دار بین بیگانه‌خواری (با اطمینان ۹۰٪ و $p < 0.0001$) و قدرت کشنده‌گی (با $p < 0.0001$) بین گروه‌های بیمار و کنترل وجود دارد. میانگین تعداد بلاستوسپورهای بلع شده در گروه بیمار ($261/93 \pm 52/07$) و در گروه کنترل ($48/9 \pm 48/5$) به‌ازای ۱۰۰ نوتروفیل می‌باشد. این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد. درصد بلاستوسپورهای کشته شده توسط نوتروفیل‌ها به عنوان معیار آزمایش کشنده‌گی در گروه بیمار ($2/89 \pm 21/6$ ٪) و در گروه کنترل ($3/48 \pm 24/53$ ٪) است.

نتیجه‌گیری

به علت فعالیت کمتر بیگانه‌خواری و قدرت کشنده‌گی در بیماران نسبت به گروه کنترل، ممکن است نقص نسبی در اعمال نوتروفیل‌های ایمنی بیماران مطرح باشد.

کلمات کلیدی: تالاسمی مژور، نوتروفیل، بیگانه‌خواری

۱- مؤلف مسؤول: کارشناس ارشد هماتولوژی، مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران و پایگاه انتقال خون خرم‌آباد
۲- PhD ایمونولوژی- استادیار مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران

مقدمه

بیماران مبتلا به تالاسمی مژور به دلایل مختلف قبل و بعد از برداشت طحال، در معرض ابتلا به عفونت‌های شدید قرار دارند (۱، ۲). افزایش عفونت در بیماران طحال‌برداری شده نسبت به گروه کنترل $\approx 30\%$ بیشتر گزارش شده است. زیرا طحال فیلتر باکتری‌ها و بسیاری از میکروارگانیسم‌های مهاجم می‌باشد (۲، ۳، ۴). طحال در حذف میکروارگانیسم‌هایی که توسط کمپلمان اپسونیزه شده‌اند، دخالت دارد (۵). علاوه بر طحال‌برداری^۱ دلایل دیگری نیز برای استعداد ابتلا به عفونت در این بیماری گزارش شده است که شامل نقص در بیگانه‌خواری^۲ نوتروفیل‌ها، کاهش تعداد فعالیت سلول‌های کشنده طبیعی^۳، اختلال در عملکرد بیگانه‌خواری ماکروفازها، اختلال در زیرگروه‌های سلول T، کاهش نسبت سلول‌های TCD4⁺/TCD8⁺ (سلول T کمکی به سرکوب‌گر) و تغییر در غلظت ایمونوگلوبولین‌ها می‌باشد (۶-۸).

گزارش‌های متعدد و گاه متناقضی در مورد ایمونوگلوبولین‌ها در این بیماران وجود دارد. گوری و همکاران گزارش کردند که تولید IgG و IgM در این بیماران کاهش می‌یابد در حالی که IgA و اجزای کمپلمان تغییری نمی‌کند (۹).

لو بشتبین و همکاران گزارش نمودند که غلظت ایمونوگلوبولین‌ها در این بیماران تغییر نمی‌کند (۶). در یک مطالعه در بخش ایمونولوژی مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون گزارش گردید که غلظت ایمونوگلوبولین‌ها در این بیماران نسبت به افراد سالم بیشتر می‌باشد (۱۰). اثرات سرکوب‌کنندگی اینمی ناشی از تزریق مکرر خون و اثرات سرکوب‌کنندگی غلظت زیاد فریتین، از دیگر عوامل مؤثر در افزایش بروز عفونت‌های مختلف در این بیماری می‌باشد (۱۱، ۱۲).

با توجه به گزارش‌های متعدد در مورد نقص عملکرد نوتروفیل‌ها در بیماران مبتلا به تالاسمی بتا که در بروز عفونت‌های مختلف در این بیماران مؤثر می‌باشدند، قدرت کشنده^۴ کاندیدا و بیگانه‌خواری نوتروفیل‌های خون محیطی برخی از این بیماران را مورد بررسی قرار دادیم.

مواد و روش‌ها

این مطالعه توصیفی بر روی ۳۰ بیمار مبتلا به تالاسمی مژور مراجعه کننده به آزمایشگاه مرکزی سازمان انتقال خون ایران، به صورت نمونه‌گیری تصادفی، و ۳۰ فرد غیرسیگاری و فاقد بیماری تالاسمی به عنوان گروه کنترل انجام شده است.

جهت بررسی عملکرد نوتروفیل‌ها بر روی نوتروفیل‌های خون محیطی بیماران که باستفاده از دکستران ۶٪ جداشده‌اند، آزمایش‌های زیر انجام شده است:

- ۱- فاگوسیتوزیس، بلع یا بیگانه‌خواری: که نتایج به صورت میانگین بلاستوسپورهای بلعیده شده توسط ۱۰۰ نوتروفیل گزارش می‌شوند (۱۲، ۱۳).

۲- کشنن بلاستوسپورهای کاندیدا آلیکانس: توانایی نوتروفیل‌ها در کشنن بلاستوسپورهای کاندیدا به مدت حداقل یک ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد که نتیجه آزمایش به صورت درصد بلاستوسپورهای مرده گزارش می‌شود (۱۲، ۱۳).

جهت بررسی آماری و مقایسه نتایج بین گروه‌های بیمار و کنترل از آزمون t-student و بررسی ارتباط عواملی چون دفعات تزریق با هر یک از اعمال نوتروفیل، از آزمون^۲ استفاده شده اما چون از محدودیت‌های عده این آزمون وجود فراوانی‌های کمتر از ۵ در ستون‌ها می‌باشد، از آزمون تحلیل یک طرفه واریانس نیز استفاده گردیده است. برای بررسی تأثیر سن بر روی آزمایش‌های انجام شده در دو گروه، آزمون همبستگی پیرسون به کار گرفته شده است.

یافته‌ها

بیماران شامل ۶۳/۳٪ مذکر و ۳۶/۷٪ مؤنث در محدوده سنی ۵ تا ۲۵ سال (و میانگین $5 \pm 13/6$ سال) و گروه کنترل شامل ۵۶/۷٪ مذکر و ۴۳/۳٪ مؤنث در محدوده سنی ۱۵ تا ۳۰ سال (و میانگین $5 \pm 21/4$ سال) می‌باشدند که ۱۶

1- Splenectomy

2- Phagocytosis

3- Natural Killer Cells

4- Killing

مبلاطیان به تالاسمی مژوزر عموماً دچار نقص در فعالیت سیستم ایمنی می‌باشند که به صورت نقص در فعالیت بیگانه‌خواری، کاهش فعالیت سلول‌های کشنده طبیعی، نقص در زیرگروه‌های سلول T، کاهش نسبت سلول‌های TCD4⁺ / TCD8⁺ بدون تغییر در تعداد مطلق لنفوцит‌های T و تغییر در غلظت ایمونوگلوبولین‌ها گزارش شده است (۱۰، ۶-۱۱).

تزریق مکرر خون، تعدیل سیستم ایمنی متعاقب انتقال خون^۱ و سرکوب سیستم ایمنی این بیماران توسط سایتومگالوویروس، که از عفونت‌های شایع در این بیماران می‌باشد، از دیگر دلایل تضعیف سیستم ایمنی در این افراد گزارش شده است (۱۵، ۱۰).

بروز عفونت‌های مختلف در بیماران مبتلا به تالاسمی به برداشت طحال در آنان نسبت داده می‌شود. زیرا طحال صافی یا فیلتر باکتری‌ها و بسیاری از میکرو ارگانیسم‌های مهاجم می‌باشد (۳). طحال‌برداری به عنوان یک ضربه^۲ در نظر گرفته می‌شود که از طریق ازدیاد کورتیکوستروئیدها، آدرنالین، نورادرنالین و گلوکاگون با تغییر متابولیسم سلول‌ها ایجاد سوء تغذیه می‌کند. افزایش ترشح هورمون، عامل تعیین کننده فعالیت بیگانه‌خواری از طریق مهار مهاجرت نوتروفیل‌ها و منوسيت‌ها، نقص سلول‌های T و مهار پاسخ آنتی‌بادی به باکتری‌ها و ویروس‌ها می‌باشد (۱۶).

در این بررسی مشخص گردید که قدرت بیگانه‌خواری نوتروفیل‌های بیماران تفاوت آشکاری با گروه کنترل دارد. سن و همکاران در سال ۱۹۸۹ گزارش کردند که قدرت بلع کاندیدا، حتی در بیمارانی که طحال‌برداری شده‌اند نیز حفظ می‌شود (۱۷). در یک مطالعه بر روی ۱۷ بیمار، جیونتلى و همکاران نیز نشان دادند نوتروفیل‌های بیماران قادر به بلع کاندیدا می‌باشند، اما نتایج ما با نتایج گزارش شده توسط سایر محققین یکسان نمی‌باشد (۱۸).

اسکوتلیس و همکاران در سال ۱۹۸۴ نقص در فاگوسیتوزیس و کشتن E.coli در ۵۰ بیمار مبتلا به تالاسمی

نفر طحال‌برداری شده و ۱۴ نفر طحال‌برداری نشده‌اند. یافته‌های مطالعه نشان دادند که بین میانگین شمارش نوتروفیل‌ها در بیماران (3401 ± 708) و گروه کنترل (2988 ± 855)، اختلاف معنی‌داری مشاهده نمی‌شود. بین سن و جنس و دفعات تزریق خون با کلیه آزمایش‌های انجام شده جهت بررسی نوتروفیل در این مطالعه رابطه‌ای وجود ندارد.

میانگین تعداد بلاستوسپورهای بلع شده در گروه بیمار ($52/93 \pm 261/93$) و در گروه کنترل ($48/9 \pm 285$) به ازای صد نوتروفیل می‌باشد. این اختلاف از نظر آماری در سطح اطمینان ۹۵٪ معنی‌دار نمی‌باشد. اما با $p < 0.01$ و اطمینان ۹۰٪ این اختلاف معنی‌دار است، به عبارتی فعالیت بلع یا بیگانه‌خواری نوتروفیل‌هادرگروه بیماران مورد مطالعه با گروه کنترل با اطمینان ۹۰٪ دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشد. در صد بلاستوسپورهای کشته شده توسط نوتروفیل‌ها به عنوان معیار آزمایش قدرت کشنده‌گی در گروه بیمار ($2/21/6 \pm 2/89$) و در گروه کنترل ($2/48/53 \pm 3/48$) می‌باشد. بررسی آماری بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار قدرت کشتن بلاستوسپورهای کاندیدا آلبیکانس در گروه کنترل و بیمار می‌باشد ($p = 0.001$).

در مقایسه فعالیت بیگانه‌خواری و کشنده‌گی (کاندیدا آلبیکانس) نوتروفیل‌های بیماران طحال‌برداری شده و طحال‌برداری نشده، قدرت بلع و قدرت کشتن کاندیدا بین دو گروه با یکدیگر تفاوت معنی‌دار ندارد.

بحث

در این مطالعه برخی فعالیت‌های نوتروفیلی بین تعدادی از بیماران مبتلا به تالاسمی مژوزر (طحال‌برداری شده و طحال‌برداری نشده) بررسی گردیدند و یافته‌ها نشان دادند که فعالیت بیگانه‌خواری و قدرت کشنده‌گی نوتروفیل در بیماران مورد مطالعه کمتر از گروه شاهد می‌باشند. به نظر نمی‌رسد تفاوت میانگین سنی دو گروه، تأثیری بر فعالیت نوتروفیل‌ها داشته باشد. مطرح شده است که قدرت بیگانه‌خواری و کشنده‌گی گرانولوسیت‌ها از دوران نوزادی در حد بالغین می‌باشد (۱۴).

1- Transfusion Immunomodulation
2- trauma

مکرر و یا ناشی از فراباری^۱ آهن باشد (۲۲). اسکوتوتیس و همکاران قدرت کشتن *E.coli* توسط نوتروفیل‌های بیماران مبتلا به تالاسمی را بررسی و معیوب بودن آن را گزارش نمودند (۱۹). جیونتلی نیز در مطالعه بر روی ۱۷ بیمار مبتلا به تالاسمی مژور قدرت کشتن کاندیدا آلبیکانس را در آن‌هامختل اعلام نمود (۱۸). نوتروفیل‌های انسان، کاندیدا آلبیکانس رادرمسیر وابسته به میلوپراکسیداز تخریب می‌کنند و نوتروفیل‌هایی که قادر میلوپراکسیداز هستند قادر به تخریب کاندیدا آلبیکانس نیستند اما سایر میکرووارگانیسم‌هارا به صورت مستقل از میلوپراکسیداز وابسته به اکسیژن تخریب می‌کنند (۲۳). با این یافته‌ها شاید بتوان نقص نسبی میلوپراکسیداز نوتروفیل‌های بیماران را نسبت به گروه کترل مطرح نمود. جهت حصول نتایج بهتر توصیه می‌شود مطالعه جامع تری در مورد بررسی سایر فعالیت‌های نوتروفیل‌ها و دیگر سلول‌های ایمنی انجام پذیرد.

را نسبت به گروه کترل گزارش نمودند (۱۹). کانتی‌نیاکس و همکاران در سال ۱۹۸۷ نقص بیگانه‌خواری با بلع (فاگوسیتوزیس) توسط پلی مورفونوکلئرها بیماران مبتلا به تالاسمی را مطرح کردند (۲۰).

اشترنباخ و همکاران در سال ۱۹۸۷ فعالیت‌های مختلف (نظیر کموتاکسی، احیا NBT و فاگوسیتوزیس یا بیگانه‌خواری) توسط سلول‌های رده منوسيت- ماکروفاز در ۲۰ بیمار مبتلا به تالاسمی را بررسی نموده و اعلام داشتند قدرت بیگانه‌خواری کاندیدا توسط این سلول‌ها دچار نقص می‌باشد (۲۱).

داو و همکاران در سال ۱۹۹۴ اعلام کردند، قدرت بیگانه‌خواری و اپسونیزاسیون نوتروفیل‌های خون محیطی ۲۵ بیمار مبتلا به تالاسمی، که به‌وسیله روش کمی لومینسانس بررسی شدند، نسبت به گروه کترل به صورت معنی‌داری افزایش می‌یابد و افزایش فعالیت پلی مورف‌ها ممکن است ناشی از تحریک آنتی‌ژنیک به‌علت انتقال خون

منابع

- 1- Kutukcular N, Kutlu O, Nisli G, et al. Assessment of neutrophil chemotaxis and random migration in children with thalassemia major. *pediat. Hematol. Oncol.* 1996; 239: 1345.
- 2- Lee GR, Foerster J, Lukens J, et al. Wintrob's clinical hematology. Lippincott Williams and Wilkins. 1998; 3: 2974.
- 3- Lehrer RI, Cline MY. Leulocyte MPO deficiency and disseminated candidiasis: the role of MPO in resistance to *C.albicans* infection. *g Clin Invest* 1996; 48: 1478-88.
- 4- Lilleyman JS, Henn IM, Blanchette VS. Pediatric hematology. Churchill Livingston, 1999: 206.
- 5- Wayngarden JB, Smith LH, Bennett JC. Cecil textbook of medicine. Saunders, 1992: 1574.
- 6- Loebenstein R, Dalal I, Nisbet-Brown E, et al. Immune function in patients with beta thalassemia, receiving the orally active iron-chelating agent deferasirox. *Bih* 1997; 98: 597-600.
- 7- Li K, Li CK, Wong RP, Wong A, Shing MM, Clink RW, et al. Transfusion – related immunomodulation in Chinese children with thalassemia. *Vox. Sang* 1997; 73: 167-73.
- 8- Ezer U, Gulden F, Culha VK, et al. Immunological status of thalassemia syndrom. *Pediatr. Hematol. Oncol.* 2002; 19(1): 51-8.
- 9- Gori G, Paradisi F. Pathogenetic mechanisms responsible for producing a secondary immunodeficiency. *J. Chemother* 1994; Suppl 3: 6-10.
- 10- بررسی ایمونوگلوبولین های سرمی مبتلا بان به بتالاسمی مازور، دکر نقی و همکاران کتابچه مقالات سومین کنگره سراسری انجمن همتوکلوزی، انکلوکلوزی ایران (تبریز) ۱۳۸۰ مهر ۲۵-۲۷ صفحه ۱۵۰-۱۲۹.
- 11- Blumberg N, Heal JM. Basics and principles of transfusion medicine. Saunders, 2000; Chapter 30:427-43.
- 12- Rose NR, Macario EC, Nakamura RM. Manual of clinical laboratory Immunology. 5th ed. RP New York, 1997.
- 13- Sanzel B, et al. The effect of zinc on bacterial phagocytosis killing and cytoprotection in human PMN leukocytes. *Apmis* 1994; 103:635.
- 14- Creasy RK. Maternal and fetal medicine: principles and practice. Saunders, 1994: 117.
- 15- Sissons JG, Boosiewicz LK, Rodgers B, Scott B. Cytomegalovirus: its cellular immunology and biology. *Immunol. Today* 1998; 7: 75-61.
- 16- Palacios MF, Testoni RA, Ballary IJ, et al. Neutrophil chemotactic dysfunction in Multitransfused thalassemic patients. *Sangre (Barc)* 1993; 36 (4): 395-9. (Spanish)
- 17- Sen L, Goica MA, Nualartp J, et al. Immunologic studies in thalassemic major. *Medicine* 1989; 49(2): 131-4.
- 18- Giuntoli JM, Estevez ME, Sen L, et al. Defective function of peripheral blood neutrophils in thalassemia major. *Am.J. Pediat Hematol. Oncol* 1984; 3: 215-7.
- 19- Skoutelis AT, Lianiu E, Papavassiliu T, et al. Defective phagocytic and bacterial function of PMN leukocyte in patients with beta-thalassemia major. *J. Infect* 1984; 8(2): 118-122.
- 20- Cantinieaux B, Hariga C, Ferster A, et al. Neutrophil dysfunction in thalassemia major: The role of cell iron overload. *Eur. Hematol* 1987; 39(1): 28-34.
- 21- Strenbach MS, Tsoukas C, Paquin M, et al. Monocyte macrophage functions in asymptomatic hemophiliacs and super transfused thalassemics. *Clin. Invest. Med.* 1987; 10(4): 275-81.
- 22- Doe SS, Merchant SM, Kapadia AC. Elevated PMN phagocytic function in Thalassemic patients by chemiluminescence. *India. J. Pediat.* 1994; 61(4): 395-9.
- 23- Hampton MB, Kettle AJ, Winterbourn CC. et al. Involvement of super-oxide anion and MPO in oxygen-dependent killing of *S.aureus* by neutrophils. *Infection and Immunity* 1996; 164: 3512-7.

Evaluation of the phagocytosis and killing strength in neutrophils of patients with thalassaemia major

Abdy J.^{1,2}, Shaiegan M.¹

¹Iranian Blood Transfusion Organization-Research Center

²KhorramAbad Blood Transfusion Center

Abstract

Background and Objectives

The immunity system of thalassemics cause of different reasons faces dysfunction. So they are susceptible to recurrent infections. One of these reasons pertains to deficiency in phagocytosis, chemotaxis, and bacterial killing ability neutrophils. As there are several reports about decline in neutrophilic functions in such patients, we aimed at studying phagocytosis and candida killing in major thalassemics.

Materials and Methods

In this study, we analyzed blood samples drawn randomly from 30 patients with thalassemia major (16 splenectomized), and 30 healthy subjects as control group without any familial background of the disease. We evaluated phagocytosis and candida killing in these groups.

Results

Our findings showed that there is no relationship between sex and age with neutrophil function in the patients. There is a significant difference in phagocytosis ($p<0.1$) and killing ability between the patient group and control group ($p<0.0001$).

Conclusions

Since phagocytosis and candida killing are of lowest activity in patients than in the control group, there may be relative deficiency in these patients' neutrophils function.

Key words: Thalassemia major, Neutrophil, Phagocytosis

Correspondence: Abdy J., M.S. IBTO-Research Center
Tel.: (+98661) 3226327; Fax : (+98661) 3200534
E-mail: ja_di48@yahoo.com